

RASTER-ELEKTRONENMIKROSKOPIE VON SPERMIEN
DES HAUSSCHAFS (OVIS AMMON ARIES, L.)

von
STEPHAN SCHULTE-WREDE

1974

Aus dem
Institut für Histologie und experimentelle Biologie
der Universität München

Vorstände:

Prof.Dr.med. RUDOLF BACHMANN
Prof.Dr.med. RUDOLF WETZSTEIN

RASTER-ELEKTRONENMIKROSKOPIE VON SPERMEN
DES HAUSCHAFS (OVIS AMMON ARIES, L.)

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin

verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
LUDWIG MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT
zu München

vorgelegt von

STEPHAN SCHULTE-WREDE

aus
Schrobenhausen

im Jahr

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med. R. WETZSTEIN

Mitberichterstatter: Prof.Dr.med. R. BACHMANN

Dekan: Prof.Dr.med. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Juni 1974



Raster-Elektronenmikroskopie von Spermien des Hausschafs (*Ovis ammon aries*, L.)*

Stephan Schulte-Wrede und Rudolf Wetzstein

Institut für Histologie und experimentelle Biologie der Universität München

Eingegangen am 2. August 1972

Scanning Electron Microscopy of Spermatozoa of the Domestic Sheep (*Ovis ammon aries*, L.)

Summary. This investigation is concerned with the scanning electron microscopic appearance of sheep spermatozoa in comparison with details gained with the transmission electron microscope by earlier authors.

The head of the spermatozoon is subdivided into three zones by two curved lines. In the anterior zone the apical sickle protrudes symmetrically behind a narrow marginal roll; the apical sickle corresponds to the apical segment of the acrosome. The equatorial zone is generally slightly elevated above the level of the anterior zone. In the medial posterior part of the equatorial zone a lunulalike area with granular surface is found. The posterior zone shows numerous small pitches; it corresponds to the post-nuclear sheath, which sends small processes into the equatorial segment of the acrosome. The surface view of this border between equatorial and posterior zone exhibits a saw-toothed appearance. A smooth tape-like area corresponds to the basal belt. At the base of the head an inserting-roll surrounds both posterior knobs and the implantation fossa.

The connecting-piece of the sperm-tail consists of two lateral, and two or three, respectively, banded medial cords. These cords originate from the capitellum, which lies inside the implantation fossa. The middle-piece shows a periodical oblique pattern, which corresponds to the left-winded mitochondrial tripel-helix inside. The middle-piece reaches to a transverse terminal ring-like structure (annulus). The principal-piece shows periodically arranged transversal ribs as well as three longitudinal elevations. The latter are modified in the course of the principal-piece. The diameter of the end-piece decreases slightly in the anterior part; then it remains constant to the rounded tip.

Key words: Spermatozoon — Sheep (*Ovis ammon aries*, L.) — Surface fine structure — Scanning electron microscopy.

Zusammenfassung. Bei der Präparation von Schafspermien für die Beobachtung im Raster-Elektronenmikroskop wurden beigemengte Schleimstoffe durch zahlreiche Waschvorgänge mit schonender Zentrifugation und Behandlung mit Hyaluronidase weitgehend entfernt.

Der Kopf des Spermium wird durch zwei bogenförmige Linien in drei Zonen unterteilt. In der vorderen Zone erhebt sich direkt hinter einem schmalen Randwulst symmetrisch die (dem apikalen Akrosomsegment entsprechende) apikale Sichel. Die äquatoriale Zone ist meist geringfügig über das Niveau der vorderen Zone erhaben; in ihrem medialen hinteren Bereich zeichnet sich ein lunulaähnlicher Bezirk mit granulierter Oberfläche ab. Die der hinteren Zone zugrundeliegende postnukleäre Scheide greift mit zahlreichen schmalen Fortsätzen in das

* Die Untersuchung wurde mit Unterstützung durch den Sonderforschungsbereich 51 (Medizinische Molekularbiologie und Biochemie) der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. — Für die Bereitstellung der Spermien danken wir Herrn Dr. E. Metzger (Abteilung für Andrologie und künstliche Besamung der tierärztlichen Fakultät der Universität München), für technische Hilfe Frau H. Asam und Herrn Ch. Grosse.

äquatoriale Segment des Akrosoms; dazwischen gelegene Einsenkungen geben der Grenze beider Zonen ein sägezahnartiges Aussehen. Die Oberfläche der hinteren Zone weist viele grubchenförmige Einsenkungen auf. Caudal drückt sich der basale Gürtel in einem glatten bandförmigen Bereich aus. An der Kopfbasis umzieht der Ansatzwulst in ovalem Verlauf die Ansatzhöhle sowie die beiden hinteren Knöpfe.

Am Schwanz des Spermium sind im Verbindungsstück zwei stärkere laterale Stranggruppen und zwischen ihnen zwei bzw. drei mediale gebänderte Stränge zu erkennen, die in der Tiefe der Ansatzhöhle aus dem Kapitulum entspringen. Das Mittelstück besitzt eine regelmäßige Schrägbänderung als Ausdruck seiner linksgewundenen mitochondrialen Tripelhelix; es schließt mit einem quergestellten Schlußring ab. Am Hauptstück sind neben einer queren Rippung drei längsverlaufende Wülste festzustellen, deren Stärke sich im Verlauf ändert. Das Endstück verjüngt sich in seinem Anfangsteil etwas; sein Durchmesser bleibt dann aber bis zum abgerundeten Schwanzende gleich.

Einleitung

Die derzeitige Kenntnis vom feinstrukturellen Aufbau der Spermien einer Vielzahl von Species gründet sich ganz vorwiegend auf Untersuchungen mit dem Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop. Nach anfänglichen Studien an Suspensionspräparaten (Bretschneider, 1955), deren Ergebnis sich meist auf Umrissbilder ganzer oder fragmentierter Spermien beschränkte, wurden durch Anwendung von Schrägbedampfung und Abdruckverfahren bald auch gewisse Details der Spermienoberfläche der Beobachtung zugänglich (Bretschneider, 1949 a, b; Randall und Friedlaender, 1950; Kessler, 1954). Die maßgeblichen Befunde über das Spermieninnere wurden in einer großen Zahl von Dünnschnitt-Untersuchungen gewonnen (Zusammenfassungen: Åberg, 1957; Fawcett, 1958; Mann, 1964; Piko, 1969; Pedersen, 1970). Die Auswertung von Bildern verschiedener Schnittebenen ermöglichte räumliche Rekonstruktionen. Schließlich brachte die Methode der Gefrierätzung noch Informationen über das Relief der Oberfläche und von Bruchflächen, die durch das Innere von Spermien gelegt wurden (Koehler, 1966, 1969, 1970, 1971).

Die unmittelbare Betrachtung der Spermienoberfläche mit dem Raster-Elektronenmikroskop (REM) übertrifft an Plastizität den durch die Schrägbedampfung erreichten Effekt bei weitem; da sie ohne Abdruckverfahren auskommt, ist sie präparativ einfacher als die Gefrierätzung. Bisher wurde das REM angewandt für Beobachtungen an Spermien vom Menschen, von Kaninchen, Hamster und Schnecken (Fujita *et al.*, 1970; Nolte *et al.*, 1970; Koehler, 1971; Gould *et al.*, 1971).

Die vorliegende Arbeit berichtet von einer REM-Untersuchung an Spermien des Hausschafs (*Ovis ammon aries*, L.). Das hierfür entwickelte Präparationsverfahren wird eingehend dargestellt und in den einzelnen Schritten begründet. Die Beobachtung an der Oberfläche der Spermien werden den mit dem Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop erhobenen Befunden der Literatur gegenübergestellt bzw. zugeordnet.

Material und Methoden

Das Volumen des Ejakulats schwankt beim Merinoschaf nach Randall und Friedlaender (1950) zwischen 0,7 und 2 ml; die Konzentration der Spermien im Ejakulat ist mit 2–5 Millionen/mm³ vergleichsweise hoch. Andererseits soll beim Schafsperma die Beimischung von Sekretstoffen aus den akzessorischen Geschlechtsdrüsen geringer sein als bei den meisten anderen Species, was für die Reinigung der Spermiesuspension bei der Präparation wichtig ist.

Die Gewinnung des Ejakulats erfolgte mittels einer künstlichen Vagina; jedes Ejakulat lieferte ausreichend Spermien für etwa fünf verschiedene Präparationen. Nach kurzer Verzögerung (Transport) gelangte das Sperma entweder sofort zur weiteren Präparation oder es wurde nach Zugabe von 10–15 Vol. % Glycerin (als Gefrierschutz: Sherman und Bunge, 1953) langsam auf -5°C eingefroren. Der Vergleich von eingefrorenen und wieder aufgetauten mit frisch präparierten Spermien ergab keine auffälligen morphologischen Veränderungen, weder vermehrt Deformitäten noch zerstörte Spermien. In unserem Untersuchungsgut fand sich in keinem Fall eine Erhöhung der Zahl mißgestalteter Spermien über die normale Rate von 2–3 % (Götze, 1949) hinaus.

Das frische Sperma gerinnt nach der Ejakulation und wird auf Grund proteolytischer Prozesse nach 20–30 min wieder verflüssigt. In diesem Zustand erfolgte:

1. Verdünnung des Sperma mit dem 5fachen Volumen Phosphatpuffer, pH 7,0 (Normbereich für Schafsperma: pH 6,2–7,4; Götze, 1949).

2. Waschvorgang zur teilweisen Entfernung wechselnd großer Mengen kolloidal gelöster Stoffe, von Schleimpartikeln, Epithelzellen und Zelldetritus. Dabei Zentrifugieren der Spermien suspension bis zu 6mal in 1 Std und jeweils Resuspendieren in Phosphatpuffer. Die Dauer der Zentrifugation wurde von anfangs 10 min (bei 900 g) auf schließlich 3 min (bei 550 g) verkürzt. Längere Zeiten und höhere Umdrehungszahlen lieferten fast solide Kügelchen aus fest ineinander verflochtenen Spermien. Beim Versuch der Resuspendierung gab es sehr häufig Abrisse an der Kopf-Schwanz-Verbindung der Spermien. — Die relative Viskosität von Schafsperma überschreitet selten den Wert 2 (Mann, 1964). Durch die Verdünnung des Sperma beim Waschen erfolgt eine stufenweise Erniedrigung der Viskosität, der durch Verringerung der Stärke der Zentrifugation Rechnung getragen wurde. Damit ergab sich eine annähernd gleiche Sedimentation während des gesamten Waschvorgangs bei optimaler Schonung der Spermien. — Dennoch blieben unterschiedliche Mengen von Schleim in Form kleiner Partikel oder als bedeckender Oberflächenfilm zurück.

3. Weitere Verminderung der Schleimreste durch chemische bzw. enzymatische Behandlung: a) *Hyaluronidase* (als Kinetin® der Fa. Schering AG) in Konzentrationen von 0,1–1 % bei Inkubationszeiten von 30 min bis zu 4 Std unter Raumtemperatur. Anschließend bis zu 3mal Waschen in Phosphatpuffer. — Die direkte Andauung des Schleims durch Depolymerisation des Hyaluronsäureanteils wurde bereits zur Schleimauflösung am Intestinaltrakt des Menschen bei der Präparation für das REM von Millington *et al.* (1969) erfolgreich benützt. — Nach Sillo-Seidl (1963) enthält das Spermium selbst Mucoproteine in bestimmter Lokalisation. Bei unseren Präparationen wurden jedoch spermieeigene Mucoproteine nicht erkennbar angegriffen. Dagegen gelang es, die Auflagerung von Schleimresten durch deren enzymatische Beseitigung weitgehend zu verhindern. — [b] Entsprechend den Angaben von Sheffner (1965), nach denen *Acetyl-Cystein* eine Abnahme der Viskosität von Mucoproteinlösungen durch Aufbrechen der Disulfidbindungen bewirkt, versuchten wir diese Substanz in Konzentrationen von 1–15 % und Inkubationszeiten von 15 min bis zu 2 Std, konnten jedoch bei unseren Präparationen keinen erkennbaren schleimlösenden Effekt erzielen. Ebenso erwies sich *Trypsin*, das schon von Bretschneider (1949a) zur Lockerung des Spermienverbandes verwendet wurde, bei Konzentrationen von 1–2 % und Inkubationszeiten von 1–3 Std als ungeeignet, da das Enzym vor einer schleimverringenden Wirkung die Spermien selbst angriff.]

4. Fixierung 45 min bis 2 Std in 1–3%iger Glutaraldehydlösung in Phosphatpuffer (pH 7,4); hiernach Zentrifugieren und Resuspendieren in destilliertem Wasser.

5. Entwässerung in der aufsteigenden Äthanolreihe mit Stufen von 35, 50, 75, 90 % und 2mal absolutem Äthanol, jeweils 15–30 min. Bei jedem Wechsel Abzentrifugieren (3 min bei 450 g) und nachfolgendes Resuspendieren.

6. In manchen Fällen Behandlung mit Ultraschall von 40 kHz 10 min lang, um an den Prädilektionsstellen der Spermien Brüche zu erzielen (Kopf-Schwanz- sowie Mittelstück-Hauptstück-Verbindung).

7. Aufpipettieren von je einem Tropfen des letzten Sediments auf runde Deckgläser. Zusatz von einem Tropfen absolutem Äthanol zur gleichmäßigen Verteilung der Spermien. Nach Verdunsten des Alkohols Auswahl von Präparationen mit der geringsten Spermienaggregation unter dem Phasenkontrast-Mikroskop. Aufkleben der Deckgläser auf Al-Objektträger für das REM mit Leitlack. Endgültige Trocknung im Exsikkator über Phosphorpentoxid.

8. Kegelbedampfung der Objekte im Hochvakuum mit Kohle und anschließend mit Gold. Beobachtung im „Stereoscan Mark II“ Raster-Elektronenmikroskop (Cambridge) bei einer Strahlspannung von 28 kV.

Befunde

Nach dem geschilderten präparativen Vorgehen fanden wir die Spermien nur ausnahmsweise einzeln liegend vor. Meist lagen sie in Gruppen beisammen, gelegentlich überlagerten sie sich gegen-

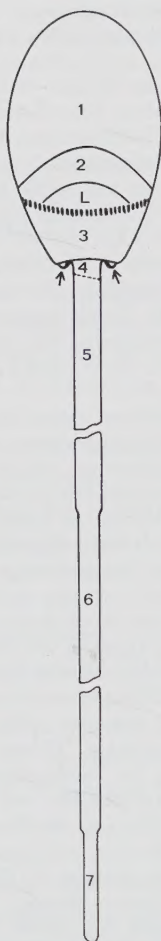


Abb. 1. Schafespermium, schematisch. Kopf: 1 vordere Zone, 2 äquatoriale Zone (L Lunula), 3 hintere Zone (↗ hintere Knöpfe).—Schwanz: 4 Hals (Verbindungsstück), 5 Mittelstück, 6 Hauptstück, 7 Endstück

seitig. Noch vorhandene Reststoffe aus dem Samenplasma waren zuweilen als Partikel unterschiedlicher Gestalt und Größe auf der Spermienoberfläche anzutreffen, ohne indessen Beobachtung und Befunderhebung nennenswert zu beeinträchtigen. Bei horizontal gestelltem Objektträger werden (ungeachtet der Lage der einzelnen Spermien zu den Koordinaten des Objektisches) sämtliche Abmessungen unverändert dargestellt, wenn auch bei minimalem Kontrast, so daß lediglich die Konturen des Spermium zu sehen sind. Durch Kippen des Objektträgers um 45° gegen die Richtung des Primärelektronenstrahls wird der Kontrast optimal erhöht und der räumliche Eindruck der Spermien voll zur Geltung gebracht.

Für die Darstellung unserer REM-Befunde halten wir uns an die Untergliederung des Spermium in Kopf und Schwanz, wobei der Schwanz aus Hals, Mittel-, Haupt- und Endstück besteht (Fawcett, 1965; vgl. Schema, Abb. 1).

Der Kopf

Bei horizontal gestelltem Objektträger besitzt der Kopf des Schafespermium eine paddelähnliche Gestalt mit stumpfem vorderem Pol. Die größte Breite des Kopfes liegt in der Mitte zwischen Kopfspitze und Kopfbasis. Im hinteren Bereich konvergieren die seitlichen Konturen etwas, um an definierter Stelle in die Kopfbasis überzugehen. Diese verläuft nicht quer, sondern in einer leichten, nach vorne konvexen Bogenlinie. Im Zentrum der Kopfbasis setzt der Hals mit seinem Verbindungsstück an. Sowohl die Kopfform als auch der Ansatz des Schwanzes

bei horizontal gestelltem Objektträger besitzen die gleiche Gestalt und Größe, wenn auch bei minimalem Kontrast, so daß lediglich die Konturen des Spermium zu sehen sind. Durch Kippen des Objektträgers um 45° gegen die Richtung des Primärelektronenstrahls wird der Kontrast optimal erhöht und der räumliche Eindruck der Spermien voll zur Geltung gebracht.

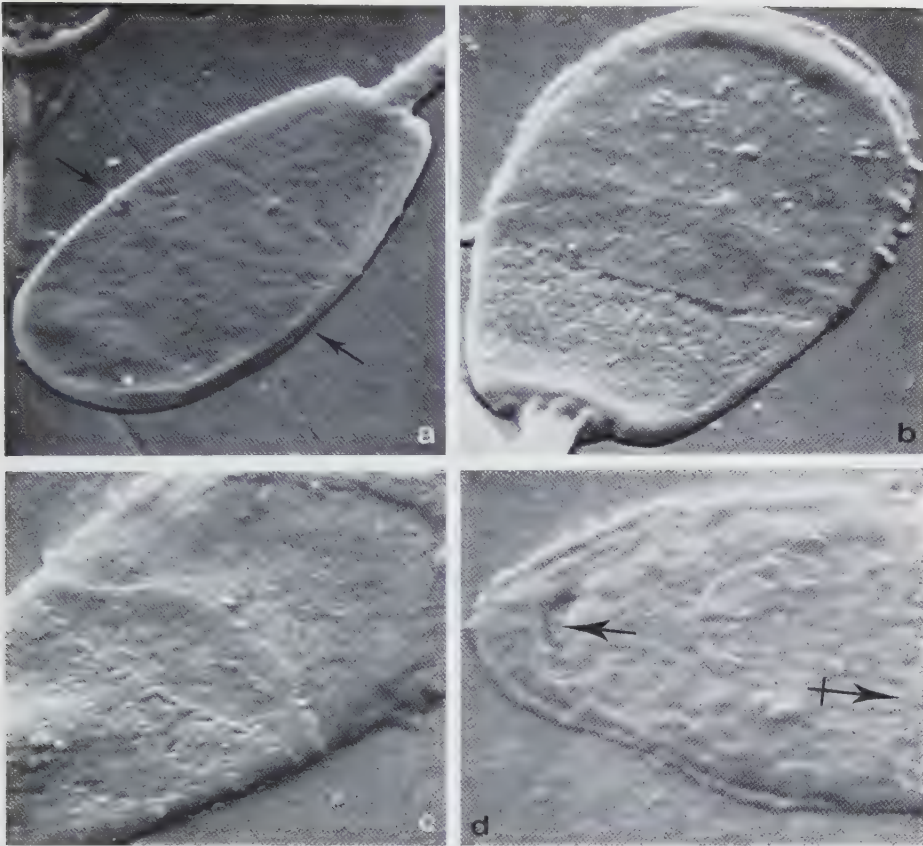


Abb. 2a—d. Spermienkopf, vordere und äquatoriale Zone. a Größter Querdurchmesser markiert ($\nearrow$). $\times 7000$. b Deutlich erhabene apikale Sichel, davor hell der schmale apikale Wulst. Äquatoriale Zone im Niveau der vorderen Kopfzone. $\times 10000$. c Vordere Zone mit zahlreichen stichtartigen Einsenkungen; äquatoriale Zone (zwischen beiden bogenförmigen Linien) darüber erhaben. $\times 12000$. d Schmale Einsenkung ($\nearrow$) infolge Dehiszenz der apikalen Sichel vom vorderen Kernrand. Der Randwulst zieht bis an den Vorderrand ($\nwarrow$) der äquatorialen Zone. $\times 12000$

weisen immer eine Symmetrie zur Längsachse des Spermium auf. Die Länge des Kopfes beträgt im Mittel 8,0—8,5 μm , die größte Breite 4,5—5,0 μm . Nach Kippen des Objekttrages um 45° zeigt der Kopf zwar noch die erwähnte Paddelform, doch in etwas asymmetrisch verzogener Weise (abhängig von der Lage zu den Koordinaten des Objekttrages: stärkste Verziehung bei einem Winkel von 45° zwischen Spermienlängsachse und horizontaler Koordinate). Daher verläuft jetzt der größte Querdurchmesser des Kopfes im REM-Bild schräg zur Längsachse (Abb. 2a, Strecke zwischen beiden Pfeilen). Diese geringfügige Verzeichnung muß als Nachteil der räumlichen Darstellung im REM hingenommen werden. Insgesamt erscheint der Kopf stark abgeplattet; er zeigt an der Oberfläche nur geringe Kontrastunterschiede, die Niveaudifferenzen zugeordnet werden können.

Die Abschnitte des Kopfes

Es lassen sich am Kopf drei Abschnitte unterscheiden, wobei der vordere etwa die Hälfte, der mittlere etwas weniger als ein Viertel, der hintere etwas mehr als ein Viertel der Oberfläche einnehmen. Diese Unterteilung wird durch zwei bogenförmig über den Kopf verlaufende Linien bewirkt (Abb. 2b).

Die vordere Kopfzone. Vorne und seitlich wird die Kontur des Kopfes von einem sehr schmalen Streifen gebildet, der sich hell darstellt und wegen seiner Form als Randwulst bezeichnet wird. Daran anschließend findet sich bei einer beträchtlichen Anzahl von Spermien eine zum Randwulst parallele Erhebung, die apikale Sichel (Abb. 2b). Sie ist am deutlichsten an der Kopfspitze profiliert und wird nach beiden Seiten hin symmetrisch schmaler und flacher. Während die apikale Sichel auf das vordere Drittel des Kopfes beschränkt ist, kann sich der Randwulst seitlich bis nahe an die Grenze zur mittleren Kopfzone hin fortsetzen. Hinter der apikalen Sichel erscheint die Oberfläche der vorderen Zone wie von zahlreichen feinen Nadelstichen imprimiert, im übrigen ist sie aber glatt beschaffen (Abb. 2c).

Die mittlere (äquatoriale) Zone. Diese Zone wird durch die bereits erwähnten bogenförmigen Linien begrenzt, die hier näher zu definieren sind: Die vordere ist etwas stärker nach apikal konvex, die hintere etwas schwächer nach caudal konvex gekrümmt (Abb. 2c). Gegen den Rand des Kopfes konvergieren die beiden Begrenzungslinien, ohne sich jedoch ganz zu treffen. Damit besitzt diese Zone in der Längsachse ihre größte Ausdehnung, an den beiden Kopfrändern ihre geringste, so daß hier vorderer und hinterer Kopfabschnitt einander bis auf 300–400 nm nahekommen. Die äquatoriale Zone kann fast im Niveau der übrigen Oberfläche liegen (Abb. 2b): bei manchen Spermien erhebt sie sich aber merklich über dieses Niveau, wodurch sie dann noch deutlicher nach vorne abgegrenzt erscheint (Abb. 2c). In beiden Fällen ist sie aber mit der hinteren Kopfzone bzw. dem Bereich der postnukleären Scheide (PNS) niveaugleich. Ihre Oberfläche stellt sich ziemlich glatt dar und weist bei den meisten Spermien keine weitere Strukturierung auf. Dennoch läßt sich recht oft im medialen hinteren Bereich der äquatorialen Zone ein gesonderter Bezirk erkennen. Er erinnert in seiner Form an die Lunula eines Fingernagels: Sein Vorderrand verläuft nach vorne konvex gekrümmt, sein Hinterrand fällt mit der Grenze der äquatorialen zur hinteren Zone zusammen (Abb. 3a). Die Oberfläche dieses Bezirks ist etwas stärker granuliert als die übrige äquatoriale Zone und vorne im Niveau gegenüber dieser etwas erhaben.

Die hintere Kopfzone (postnukleäre Scheide). Diese Zone nimmt etwas mehr als ein Viertel der Kopfoberfläche ein. An ihrer Grenze zur äquatorialen Zone verläuft bogenförmig, nach hinten konvex, eine Furche von der einen zur anderen Seite des Kopfes. Gelegentlich tritt vor dieser Furche, parallel zu ihr, ein schmaler Wulst auf (Abb. 3b), der dann die hintere Begrenzung des kleinen lunulaähnlichen Bezirks in der äquatorialen Zone bildet. Die Furche wird von zahlreichen kleinen fingerförmigen Ausstülpungen des vorderen Randes der hinteren Zone überbrückt (Abb. 3b, c): die Oberfläche zwischen ihnen ist eingesenkt. In der Aufsicht zählt man 30–35 solcher Ausstülpungen: demzufolge kann für den gesamten Kopfumfang auf 60–70 derartiger Fortsätze geschlossen werden, die dem Vorderrand der hinteren Zone ein charakteristisches sägezahnähnliches Aussehen verleihen.

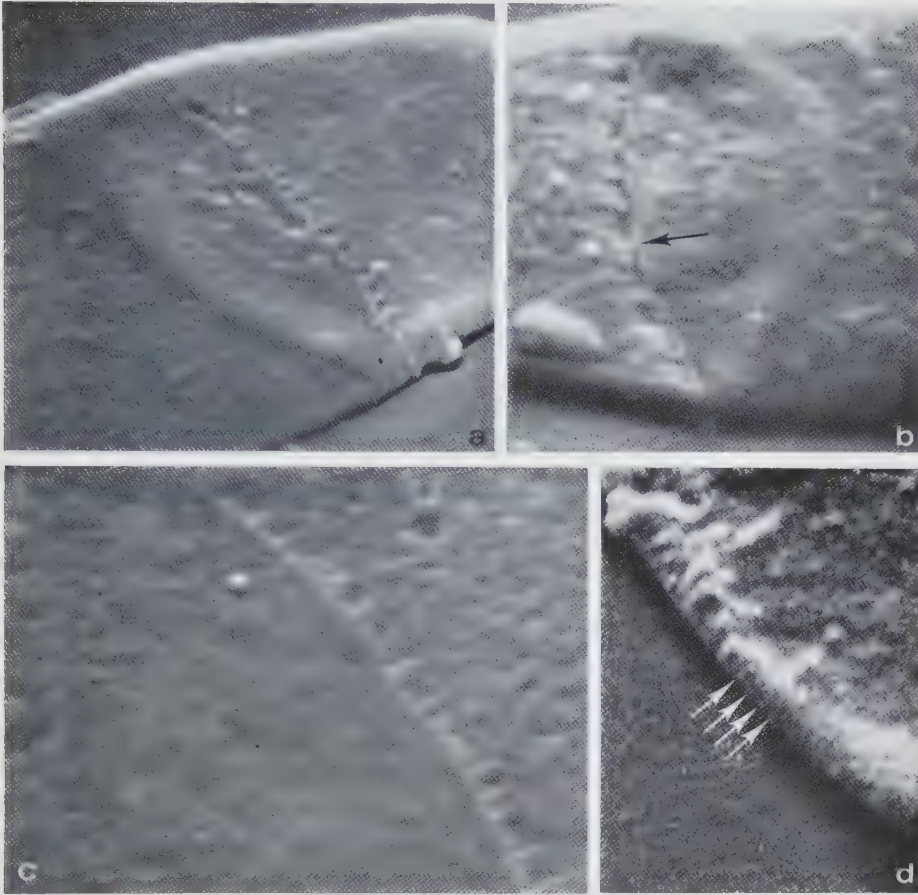


Abb. 3a—d. Äquatoriale und hintere Zone des Kopfes. a Lunulaähnlicher Bezirk mit unregelmäßig granulierter Oberfläche im medialen hinteren Bereich der äquatorialen Zone; deren Vorderrand ist bandförmig erhaben. $\times 14000$. b Von der hinteren Zone (links) erstrecken sich zahlreiche schmale Fortsätze zur äquatorialen Zone; unmittelbar vor diesen ein dünner Wulst ($\nearrow$). $\times 18000$. c Von der hinteren Zone (mit vielen größeren Einsenkungen der Oberfläche) brückenartige Fortsätze zur äquatorialen Zone. $\times 29000$. d Seitlicher Rand der hinteren Zone mit periodischer Rippung ($\nearrow \nearrow$). $\times 20000$

In der Oberfläche dieser Zone befinden sich zahlreiche kleine kraterförmige Einsenkungen in ziemlich regelloser Verteilung. Von den nadelstichähnlichen Imprimationen der vorderen Kopfzone unterscheiden sie sich durch weiteren Durchmesser und größere Tiefe (Abb. 3c). Im Gegensatz dazu enthalten der seitliche und hintere Rand der Zone keine derartigen Einsenkungen (Abb. 4a); diese Bereiche sind vorwiegend glatt beschaffen. In günstigen Fällen läßt sich jedoch am seitlichen Rand der Zone eine periodische Unterstruktur auflösen. Sie besteht aus einer quer zur Kopfachse verlaufenden feinen Rippung, so daß der Eindruck entsteht, als würde dieser seitliche Rand spangenförmig von parallelen Rippen

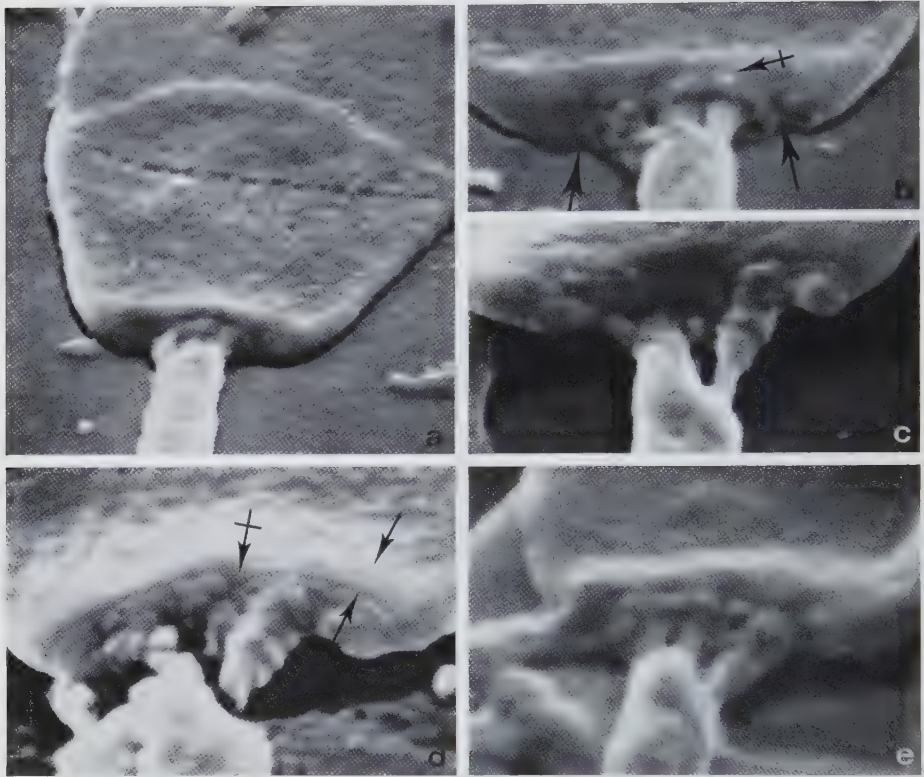


Abb. 4a—e. Hintere Zone und Kopfbasis. a Zahlreiche Einsenkungen der hinteren Zone; deutliche Verdickung unmittelbar vor der Kopfbasis. $\times 12500$. b Beiderseits der an der Kopfbasis verdickten Stränge des Verbindungsstücks, durch Furchen ($\nearrow$) abgetrennt, hintere Knöpfe mit zentraler Eindellung. Der Ansatzwulst ist durch eine Linie ($\times$) abgesetzt. $\times 18000$. c Ansatzwulst in ovalem Verlauf um die Kopfbasis, am rechten hinteren Knopf besonders deutlich zu sehen. $\times 24000$. d Bandförmiger Bereich der hinteren Zone vor dem Ansatzwulst ($\nearrow$), der eine Einziehung ($\times$) aufweist; Mittelstück defekt. $\times 24000$. e Drei an der Kopfbasis knopfartig verdickte Stranggruppen des Verbindungsstücks konvergieren caudalwärts. $\times 20000$

gestützt (Abb. 3d). In periodischer Folge von 80—90 nm kann man 30—35 solcher Rippen zählen.

Gegen die Basis ist der Kopf merklich verdickt. In dieser Verdickung kann man eine glatte bandförmige Struktur erkennen (Abb. 4d), auf die caudalwärts unmittelbar der Ansatzwulst folgt. Dieser umzieht die Kopfbasis in ovalem Verlauf (Abb. 4c). Er umfaßt somit den gesamten Ansatzbereich des Schwanzes, einschließlich der als „hintere Knöpfe“ bezeichneten Erhebungen. Diese wölben sich an der Kopfbasis, beiderseits vom Schwanzansatz, halbkugelförmig vor und besitzen gelegentlich zentral eine kleine Eindellung (Abb. 4b). Eine deutliche Furche trennt die beiden hinteren Knöpfe vom seitlichen Rand des Halses mit dem umschlossenen Verbindungsstück.



Abb. 5a—f. Ansatzhöhle, Verbindungsstück. a Mittels Ultraschall von der Kopfbasis abgetrennter Schwanz, dessen Verbindungsstück in die Ansatzhöhle eingepaßt war. $\times 20000$. b Aufsicht auf die Kopfbasis mit den hinteren Knöpfen und die dazwischen tief eingesenkte Ansatzhöhle. $\times 20000$. c Aufteilung der mittleren Stranggruppe des Verbindungsstücks in drei parallele Stränge zwischen den beiden stärkeren lateralen Stranggruppen. $\times 24000$. d Mittlere Stranggruppe aus zwei parallelen Strängen mit feiner Querstreifung ($\nearrow \nearrow$); knopfartige Verdickung der Stränge direkt an der Kopfbasis. $\times 20000$. e und f durch Ultraschall abgetrennte Spermischwänze; verschiedene Ansichten des Kapitulum ($\nearrow$). $\times 20000$

Der Schwanz

Der Hals (mit dem Verbindungsstück). Der Hals enthält als wichtigstes Element das Verbindungsstück, das dem gelenkigen Kontakt des Schwanzes mit der Kopf-

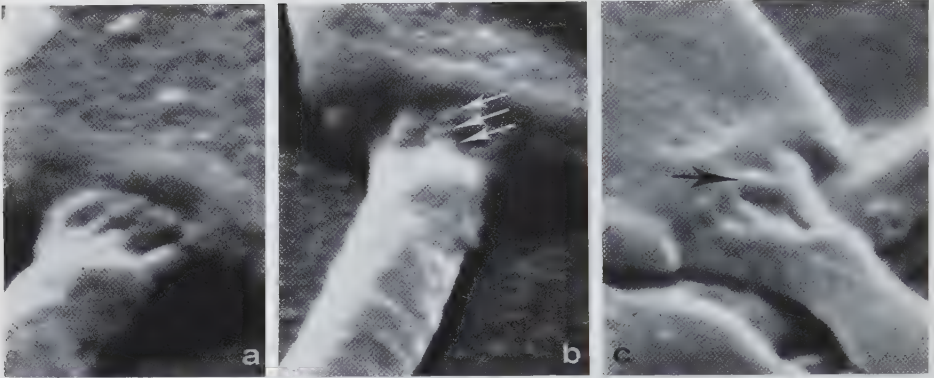


Abb. 6a—c. Verbindungsstück. a Stränge im Verbindungsstück nach Verdrillung des Schwanzes schräg gestellt. $\times 24000$. b Schräge, parallele Zeichnung ($\nearrow$) an den einzelnen medialen Strängen („helikales“ Muster?). $\times 22000$. c Die Aufgabelung der rechten lateralen Stranggruppe wird durch das proximale Centriol ($\nearrow$) hervorgerufen. $\times 20000$

basis dient. Es bildet entsprechend der ovalen Ansatzregion zwischen den beiden hinteren Knöpfen am Kopf einen fächerförmigen Komplex aus, der sich im REM auf unterschiedliche Weise darstellen kann. Der Ansatzfächer setzt sich aus drei Gruppen von Strängen zusammen, einer mittleren und zwei seitlichen (Abb. 4e). Er ist in eine Aushöhlung (Ansatzhöhle) (Abb. 5b) der Kopfbasis zwischen den beiden hinteren Knöpfen so eingepaßt, daß er weiter nach apikal reicht als die ihn in der Aufsicht bogenförmig überdeckende Kontur der Kopfbasis (Abb. 5a).

Durch eine ausnahmsweise anzutreffende umschriebene Einsenkung im Verlauf des Ansatzwulstes (Abb. 4d) kann eine der beiden seitlichen Stranggruppen noch besonders markiert werden. Davon wird aber auch die sonst ovale Kopfbasis verformt.

Nach Vorbehandlung der Spermien suspension mit Ultraschall wird bei den meisten Spermien der Schwanz vollständig vom Kopf abgerissen, da der Hals die schwächste Stelle im Gefüge des Spermium ist. Der Schwanz kann aber gelegentlich noch teilweise am Kopf haften; dann wird die Spitze des Verbindungsstücks gleichsam als räumliches Positiv der Ansatzhöhle sichtbar (Abb. 5a).

Die mittlere Stranggruppe läßt zuweilen eine Zwei- bzw. Dreiteilung in parallel nebeneinander verlaufende Stränge erkennen, die eine feine Querstreifung aufweisen (Abb. 5d). Jeder dieser Stränge ist direkt am Kopfansatz kolbig verdickt. Auch die beiden seitlichen Stranggruppen besitzen eine derartige vordere Verstärkung. — Nur jeweils eine der beiden seitlichen Stranggruppen ist in ihrer vorderen Hälfte gegabelt (Abb. 6c), wobei ein Ast die Verlaufsrichtung fortsetzt, der andere medialwärts zur Kopfbasis hin zieht. Nach caudal verjüngen sich die Stränge des Ansatzfächers, konvergieren leicht und setzen sich im Mittelstück fort (Abb. 4e). — Manchmal beobachtet man im Halsbereich schräg über das Verbindungsstück verlaufende Züge (Abb. 6a). In einigen Fällen findet man an den einzelnen medialen Strängen eine schräge Zeichnung („helikales“ Muster? Abb. 6b).

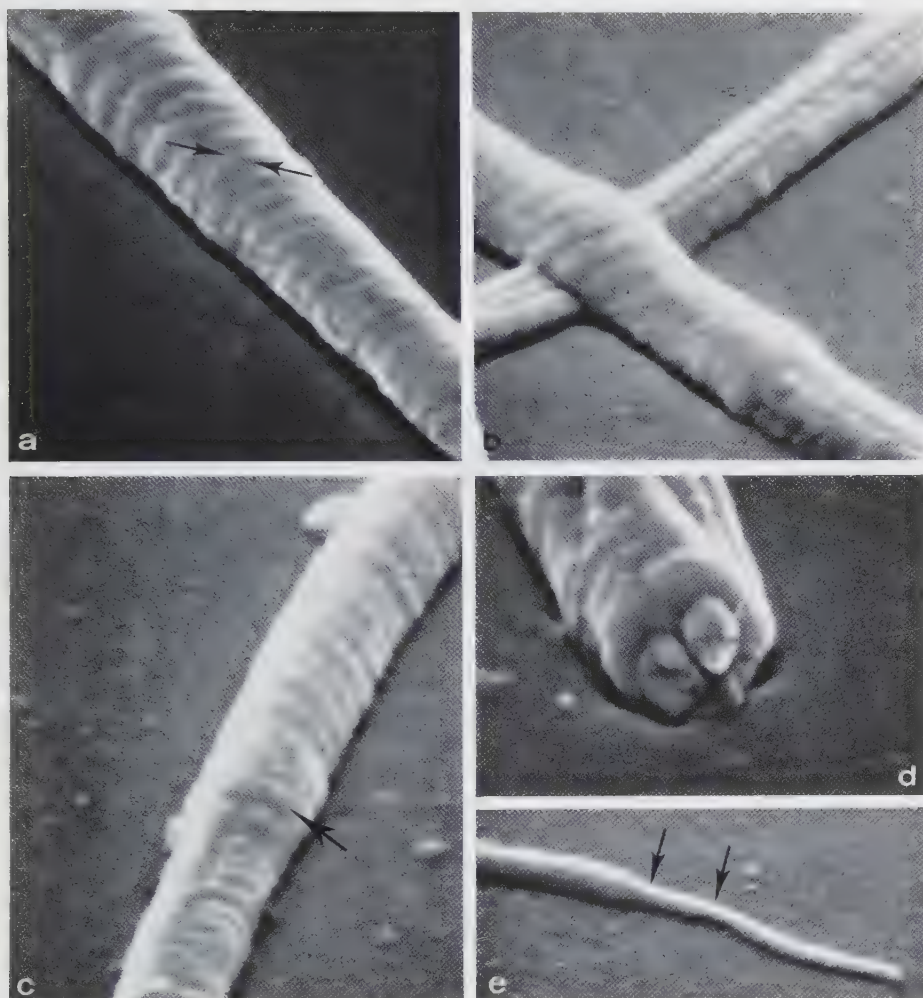


Abb. 7a—e. Mittel-, Haupt- und Endstück. a Caudal leicht konisch sich verjüngendes Mittelstück. Auffällige Schrägbänderung als Ausdruck der helikalen Anordnung der Mitochondrien. Zarte Furche (↗) kann als Überlappung zweier Mitochondrienenden gedeutet werden. $\times 24000$. b Im rechten unteren Bildteil Übergang des Mittelstücks zum Hauptstück; an diesem entspricht der starke mediale Wulst (durch eine feine Furche noch längs unterteilt) dem Komplex aus zentralen und peripheren Fibrillen. Das andere Hauptstück ist weiter caudal getroffen: der mediale Wulst (zentraler Fibrillenkomplex) liegt zwischen zwei etwas stärkeren lateralen Wülsten (zwei Bündel aus peripheren Fibrillen). $\times 24000$. c Schlußring als queres Band (↗) am Ende des Mittelstücks. Die quere Rippung des Hauptstücks kommt im Gegensatz zur schrägen Bänderung des Mittelstücks deutlich zum Ausdruck. $\times 24000$. d Durch Ultraschall hinter dem Schlußring abgebrochener Schwanz: drei Stümpfe von Bündeln aus peripheren Fibrillen ragen über die Bruchfläche heraus. $\times 30000$. e Das Endstück verjüngt sich im Anfangsteil konisch (↗). $\times 15000$

Das Mittelstück. Das Mittelstück schließt sich unmittelbar an den Hals an und zeigt bei der Abbildung im REM häufig eine schräge obere Begrenzung (Abb. 4c, 4e). Es stellt sich auf den Bildern stets als ein etwas abgeplatteter Zylinder dar (Abb. 7e). Seine Länge beträgt zwischen 15 und 16 μm , sein Durchmesser nimmt von anfangs 750 auf 650 nm an seinem Ende ab. Im gesamten Verlauf des Mittelstücks trifft man auf eine charakteristische, leicht schräge Bänderung, die immer vom rechten zum linken Rand apikalwärts ansteigt (Abb. 7a, 7b, 7c). Die Breite dieser Bänderung beträgt etwa 200 nm; ihr Steigungswinkel liegt zwischen 18 und 23°. Da diese Bänderung in durchaus regelmäßiger Anordnung am gesamten Mittelstück anzutreffen ist und keine sichtbaren größeren Unterbrechungen aufweist, muß man sich die Bänderung als Ausdruck eines fortlaufenden Bandes vorstellen. Dieses windet sich im Sinn einer linksgewundenen Schraube um die Achse des Mittelstücks. Aus den gemessenen Werten (Durchmesser des Mittelstücks, Breite der Bänderung und deren Winkel zur Längsachse) ergibt sich rechnerisch bzw. geometrisch, daß offensichtlich drei solcher Bänder parallel im Mittelstück helikal in Richtung zum Hauptstück absteigen (vgl. S. 124).

Gegen das caudale Ende nimmt der Durchmesser des Mittelstücks, verbunden mit einer Verminderung der Breite der Bänderung, um etwa 100 nm ab (Abb. 7a). Das hintere Ende des Mittelstücks wird von einer dickeren letzten Bandwindung gebildet, die allerdings nicht mehr schräg sondern quer zur Längsachse verläuft und als Schlußring bezeichnet wird (Abb. 7c).

Abb. 7d zeigt einen Aufblick auf die craniale Bruchfläche eines (nach Ultraschallvorbehandlung) am Übergang vom Mittel- zum Hauptstück abgebrochenen Spermischwanzes. Man erkennt den Mantel der Mitochondrienscheide bzw. des hier liegenden Schlußrings, aus dem drei stumpfe Gebilde hervorstehen, die ihrerseits noch durch eine quere Einsenkung untergliedert sind. Es handelt sich dabei um die abgebrochenen Fibrillen des Schwanzes, die sich zu drei Gruppen zusammenengelagert haben. Die Einsenkungen an den Stümpfen markieren noch die einzelnen Fibrillen innerhalb der Gruppen.

Das Hauptstück. Hinter dem Schlußring verschmälert sich der Schwanz abrupt zum Hauptstück (Abb. 7c). Seine Länge beträgt zwischen 43 und 48 μm , sein Durchmesser nimmt während des Verlaufs von 500 allmählich auf 300 nm ab. An der Oberfläche wird das Hauptstück, ähnlich dem Mittelstück, durch eine feine Rippung untergliedert. Verschieden von jener ist jedoch der hier zur Längsachse annähernd quere Verlauf dieser Zeichnung (Abb. 7c). Des weiteren wird das Hauptstück durch zwei längsverlaufende Linien in drei längsgerichtete Untereinheiten gegliedert (Abb. 7b). Unmittelbar in Fortsetzung des Schlußrings kann ein massiver, medial gelegener Längswulst von zwei sehr schwachen seitlichen Wülsten unterschieden werden. Weiter caudalwärts wölben sich zunächst die beiden Seitenwülste stärker hervor (Abb. 7b), doch kurz vor dem Endstück ist nur noch ein medialer Längswulst vorhanden.

Das Endstück. Eine weitere abrupte Dickenabnahme des Schwanzes markiert den Übergang des Hauptstücks zum Endstück (Abb. 7e). Seine Länge beträgt etwa 3–4 μm , sein Durchmesser etwa 200 nm. Im ersten Viertel des Endstücks vermindert sich der Durchmesser noch geringfügig (Abb. 7e, zwischen den Pfeilen), um dann bis zum stumpfen Ende des Schwanzes annähernd gleichzubleiben. Die Oberfläche des Endstücks ist glatt.

Diskussion

Bei der Präparation von Spermien für die Untersuchung im REM liegt ein erhebliches Problem in der möglichst vollständigen Entfernung von Schleimbeimengungen, die von den Sekretanteilen des Sperma stammen. Fujita *et al.* (1970) haben bei der Präparation von menschlichem Sperma den Waschvorgang erst nach der Fixierung vorgenommen. Dieses Vorgehen führt bei der Aufbereitung der SchafspERMien nicht zum Ziel. Dagegen erwiesen sich das verlängerte Waschen sowohl vor als auch nach der Fixierung und die Andauung der Schleimstoffe in der Spermien suspension mit Hyaluronidase als erfolgreich: die Schleimstoffe waren — mit Ausnahme kleinerer, nicht störender Partikel — weitgehend beseitigt.

Ein weiteres Problem der Raster-Elektronenmikroskopie im allgemeinen stellt der Trocknungsprozeß dar. Da bei der Trocknung infolge der Oberflächenspannung des Äthanol erhebliehe Kräfte auftreten, kommt es bei sehr wasserreichen Geweben häufig zu ausgedehnten morphologischen Veränderungen. Bei unseren Untersuchungen scheinen der geringe Wassergehalt der Spermien (Barer *et al.*, 1953) und die vorsichtige Entwässerung diese Veränderungen durch die Trocknung zwar nicht ganz verhindert, aber doch in engen Grenzen gehalten zu haben.

Die sowohl im Lichtmikroskop von Clermont und Leblond (1955) als auch im Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop von Nicander und Bane (1966) bei SchafspERMien beobachtete symmetrische Paddelform des Kopfes in der Aufsicht kann exakt nur bei horizontal gestelltem Objektträger gesehen werden (vgl. S. 108), wobei sich indessen der äußerst geringe Kontrast und der Verlust des räumlichen Eindrucks nachteilig auswirken. Genaue Messungen am Spermium können nur in dieser Stellung durchgeführt werden; bei höheren Vergrößerungen wird die Beobachtung durch eine vermehrte Unschärfe der Konturen infolge eines unvermeidbaren Auflösungsverlustes weiter erschwert. — Bei Kippung des Objektisches um 45° sind — vgl. Bemerkung auf S. 109 — die Abmessungen in der zur Kippachse parallelen Richtung (Bildhorizontale) unverändert, die senkrecht dazu stehenden Abmessungen (Bildvertikale) um etwa 30 % verkürzt. Die Verkürzung von Abmessungen in *schrägen Richtungen* zu diesen Koordinaten liegen zwischen den beiden Grenzwerten von 0 und 30 %.

Unser Maß für die Kopflänge (8,0—8,5 μm) stimmt mit den Angaben von Herrnleben (1954) (7,8—8,4 μm) gut überein. Dagegen liegt unser Wert für die größte Kopfbreite (4,5—5,0 μm) etwas über dem des Autors (4,0—4,7 μm). Diese mäßige Verbreitung infolge einer vermehrten Abplattung des Kopfes — verbunden mit einer geringen Dickenabnahme — wird durch die große Oberflächenspannung beim Trocknen verursacht.

Die Untergliederung der Oberfläche des Spermienkopfes in einzelne Abschnitte wird wesentlich durch drei Bestandteile bestimmt, die eng in Zusammenhang stehen: Zellkern, Akrosom und postnukleäre Scheide. Der Zellkern setzt sich vorwiegend aus sehr dicht gepackten Chromatinfibrillen zusammen (Lung, 1968), die in parallel liegenden Lamellen angeordnet zu sein scheinen (Koehler, 1970, 1971). Im Kern besitzt der Kopf ein überaus stabiles Grundgerüst, dessen Zerstörung und Auflösung durch physikalische und chemische Angriffe nicht leicht erreicht werden kann (Piko, 1969). Nach Schnall (1952) beträgt der Anteil des Kerns am Volumen des Spermienkopfes (beim Menschen) zwar nur 65 %. In der Aufsicht nimmt der Kern jedoch den weitaus größten Teil unter der Oberfläche ein. Beim SchafspERMium erstreckt er sich bis nahe an die apikale Begrenzung (Nicander und Bane, 1966).

Im Bereich der vorderen drei Viertel des Kopfes wird der Kern von der akrosomalen Kappe überzogen (Fawcett und Ito, 1965), die sich aus dem elektronenmikroskopisch weitgehend amorphen Akrosom und dessen geschlossenen membranösen Überzug zusammensetzt. Im Akrosom lassen sich drei Abschnitte unterscheiden: ein verdicktes apikales Segment liegt vor dem Kern, ein Hauptsegment über dessen Vorderrand, ein dünneres äquatoriales Segment über dem Mittelteil des Kerns. Im äquatorialen Segment wird der caudale Teil der akrosomalen Kappe etwas dünner (Fawcett und Phillips, 1970). Im Akrosom befinden sich Mucopolysaccharide (Ortavant *et al.*, 1969) sowie Glycolipoproteide (Mann, 1964). Hyaluronidase soll im apikalen Bereich des Akrosoms lokalisiert sein, das hypothetische Zona-Lysin mehr seitlich (Piko, 1969). Diese beiden Enzyme sollen während der Penetration des Spermium in die Eizelle bei der Imprägnation eine ausschlaggebende Rolle spielen.

Wenn auch das REM nur einen Aufblick auf die Oberfläche des Spermium erlaubt, können doch dem Zellkern und besonders dem Akrosom gewisse Äquivalente des Oberflächenreliefs zugeordnet werden. Dem apikalen Segment des Akrosoms entspricht im REM-Bild die apikale Sichel (Abb. 2b), deren größte Erhebung in der Mittellinie einer Anhäufung akrosomalen Materials an dieser Stelle gleichzusetzen ist. Daß die apikale Sichel nicht bei allen Spermien angetroffen werden kann, basiert auf der ventro-dorsalen Asymmetrie des Kerns: Seine Fläche ist auf der ventralen Seite konvex, auf der dorsalen Seite konvex gekrümmt (Nicander und Bane, 1966). Diese Autoren beschreiben an Sagittalschnitten durch den Kopf am Rand der ventralen Seite des Kerns eine prominente Verdickung des Akrosoms. Im räumlichen Bild des REM zeigt diese Verdickung das charakteristische Aussehen einer Sichel. Die Verdickung beschränkt sich beim Schafspermium auf die apikale Peripherie des Kopfes, während Gould *et al.* (1971) beim Kaninchenspermium im REM eine durch das Akrosom bedingte Schwellung an der apikalen wie auch an der seitlichen Kontur der vorderen Kopfhälfte festgestellt haben.

Am Vorderrand des Kerns befindet sich zwischen der verdickten inneren Membran des Akrosoms und der Kernmembran ein subakrosomaler Raum (so z. B. beim Meerschweinchen: Fawcett, 1965), der von dichtem Material ausgefüllt sein kann („apikaler Körper“ beim Kaninchenspermium: Bedford, 1964). Infolge dieses Raums zwischen den Membranen ist der Zusammenhalt zwischen Akrosom und Kern in diesem Bereich geringer als an den übrigen Kernabschnitten, wo sich die bedeckenden Strukturen vorwiegend flächenhaft überlagern. Eine Dehiszenz zwischen Akrosom und Kern ereignet sich daher an dieser Stelle verhältnismäßig leicht: Bei der Präparation kann während des Trocknens der Kopf so fest auf dem Objektträger haften, daß die unvermeidliche Volumenverminderung im weiteren Verlauf der Trocknung zu einer Kontinuitätstrennung zwischen Kern und apikalem Akrosomsegment führt. In diesem Fall wird die apikale Sichel in Form und Ausdehnung besonders deutlich erkennbar (Abb. 2d): Die bogenförmige Einsenkung liegt zwischen Hinterrand der Sichel und Vorderrand des Kerns: sie entspricht etwa der Lage des subakrosomalen Raums. Die geringe Breite der Sichel zeigt einerseits an, wie weit sich der Kern innerhalb des Kopfes nach vorne erstreckt, andererseits, wie schmal beim Schafspermium der vom apikalen Segment des Akrosoms eingenommene Bereich ist, wie das schon Clermont und Leblond (1955) und Nicander und Bane (1966) betont haben. Da aber nach Entstehung einer

Dehiszenz die Sichel abgleitet und keine Erhebung mehr existiert, kann im REM nicht entschieden werden, ob gerade die ventrale oder die dorsale Kopffläche obenauf liegt. Das geschilderte Vorkommnis ist so häufig, daß nur eine Minderzahl der im REM beobachteten Spermien eine apikale Sichel erkennen läßt.

Das Hauptsegment des Akrosoms ist dünner als das apikale und liegt der äußeren Lamina der Kernmembran fest an (Fawcett, 1965). Da der Kern in diesem Bereich nur von Membranhüllen mit dem zwischengeschalteten Akrosomteil umgeben wird, ist es wahrscheinlich, daß die an der Oberfläche sichtbaren punktförmigen Einsenkungen (Abb. 2c). Ausdruck entsprechender Unregelmäßigkeiten der Kernoberfläche sind. Eine Interpretation im Sinn der von Koehler (1970) beschriebenen partikelhaltigen und partikelfreien Areale des Akrosoms erscheint uns nicht angebracht. Die von Koehler (1971) beim Kaninchenspermium im REM beschriebenen Falten konnten wir bei Schafpermien nicht beobachten.

Im äquatorialen Segment des Akrosoms, das unserer äquatorialen Zone des Kopfes entspricht, findet sich neben einer leichten taillenartigen Verjüngung des Kerns im Sagittalschnitt (Nicander und Bane, 1962) auch eine umschriebene Verdichtung des akrosomalen Materials (Nicander und Bane, 1966; Pedersen, 1970), bei gleichzeitiger weiterer Verschmälerung des Akrosoms. Ferner fällt mit dem Beginn des äquatorialen Segments eine Ausweitung des Raums zwischen Akrosom und Kern zusammen (Zibrin, 1971), in dem vermehrt amorphes Material angetroffen werden kann (Nicander und Bane, 1962; Piko, 1969). Auffallenderweise drücken sich im REM die erwähnten Dickenabnahmen von Kern und Akrosom nicht als Einsenkung an der Oberfläche aus. Wir finden, im Gegenteil, eine halbmondförmige flächige Erhebung (Abb. 2c): ihr Vorderrand verläuft stets bogig (Nicander und Bane, 1962) und bildet in ihrem Verlauf im Gegensatz zu den Befunden von Randall und Friedlaender (1950) keinen stumpfen Winkel.

Die Entstehung der Erhebung beruht darauf, daß die Dickenabnahme durch die Trocknung im äquatorialen Segment geringer ist als in den anderen Segmenten: Ein Grund hierfür liegt im vergleichsweise geringeren Wassergehalt in diesem Bereich vermehrter Kondensation akrosomalen Materials. Ferner wissen wir von Sagittalschnitten, daß der Vorderrand des Segments verdickt ist. Schließlich kann auch die Anhäufung amorphen Materials zwischen Akrosom und Kern die Volumenabnahme an dieser Stelle bei der Trocknung beschränken.

Die vordere bandförmige Begrenzung der äquatorialen Zone im REM (Abb. 3a) läßt sich von der größten Ausweitung des subakrosomalen Raums mit dem dort befindlichen Material am Vorderrand des äquatorialen Segments ableiten. — Der vor der Grenze zur hinteren Kopfzone vorkommende kleine lunulaähnliche Bezirk (Abb. 3a) mit der etwas granulierten Oberfläche ist der von Koehler (1966) beschriebenen Übergangszone der Grenze der postnukleären Scheide ähnlich: die Identität kann mit dem REM am Oberflächenbild allerdings nicht nachgewiesen werden.

Caudal folgt auf das Akrosom die postnukleäre Scheide, die im hinteren Kopfviertel als eine Lage besonders verdichteten und charakteristisch strukturierten Materials den Raum zwischen Kern und oberflächlichem Plasmalemm einnimmt (Fawcett und Ito, 1965; Koehler, 1966, 1970, 1971). Ihr Beginn wird im REM durch eine besonders ausgebildete Grenze deutlich markiert. Die auf S. 110 beschriebenen Ausstülpungen oder Fortsätze gehören offensichtlich zur PNS, der

im Oberflächenbild die hintere Zone entspricht. Die den Kopf überquerende Furche muß einer strukturellen Trennung des äquatorialen Akrosomsegments von der PNS zugeordnet werden. Die Ausstülpungen (Abb. 3b) liegen nach unserer Auffassung dem äquatorialen Akrosomsegment nicht auf, wie Randall und Friedlaender (1950) vermutet hatten: vielmehr ragen sie, nach Art einer Verzahnung, von der PNS ausgehend in entsprechende Nischen des Akrosoms. Das sägezahnartige Muster kommt wohl dadurch zustande, daß der akrosomale Anteil der Verzahnung beim Trocknen mehr Volumen eingebüßt hat als das kompaktere Material der PNS. Wir nehmen daher an, daß die eingesunkenen Stellen dem Anteil des Akrosoms, die auffallenden Ausstülpungen dem der PNS entsprechen (vgl. Abb. 3b, c). Die Zahl der Ausstülpungen ist am Kopfumfang des Schafespermium mit 65—70 die gleiche, die Koehler (1971) an Rinderspermien festgestellt hat. Die vor der PNS-Grenze gelegene Furche sehen wir, im Gegensatz zu Randall und Friedlaender (1950), nicht als Ausdruck eines um den Kern verlaufenden Ringes an; wir deuten sie eher als Folge des Fehlens einer engen Verknüpfung zwischen dem von Membranen umschlossenen Akrosom und dem Material der PNS. Vermutlich wird sie durch die Einsenkungen des akrosomalen Anteils der Verzahnung verstärkt.

Die PNS verbindet nach Art eines septierten Desmosoms (Fawcett und Ito, 1965) die äußere Lamina der Kernmembran mit dem Plasmalemm. Bei der Beurteilung des Aufbaus und der Zusammensetzung der PNS wird diese von Bishop und Walton (1960) noch als doppelt geschichtete Membran, von Rahlmann (1961) als poröse Scheide und von Nicander und Bane (1962) bzw. von Saacke und Almquist (1964a) als kontinuierlich dichte Schicht unter dem Plasmalemm bezeichnet. Dagegen haben Fawcett und Ito (1965) im Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop an der PNS von Fledermausspermien feinstrukturelle Details beobachtet, die in Querschnitten ähnlich einem Zickzack-Muster, in Längsschnitten als periodisch paralleles Linienmuster imponieren. Die zahlreichen grubchenförmigen Einsenkungen an der Oberfläche der hinteren Kopfzone kommen (im Gegensatz zu ähnlichen Bildungen an der vorderen Kopfzone) wahrscheinlich durch diese spezifische Anordnung des Materials der PNS zustande (vgl. Abb. 2b, 3c, 4a) und nicht durch ein entsprechendes Relief des darunterliegenden Kerns. Dennoch kann man vom REM-Bild ausgehend nicht auf eine ähnlich gesetzmäßige Feinstruktur schließen, wie sie bei Spermien der Fledermaus vorliegt, da die Einsenkungen der Oberfläche ganz regellos verteilt sind. — Am seitlichen Rand der hinteren Kopfzone fehlen Einsenkungen gänzlich, so daß er meist glatt erscheint. Der im REM dort zuweilen gefundenen feinen Rippung im Abstand von 80—90 nm kann an günstig gelegenen Dünnschnitten im Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop eine vergleichbare Struktur gegenübergestellt werden. Deren Rippenabstand beträgt allerdings mit etwa 30 nm nur ungefähr ein Drittel von der im REM beobachteten. Daraus muß gefolgert werden, daß die Oberflächenrippung im REM bereits ein vergrößertes Muster wiedergibt.

Der caudale Kopfpol weist im sagittalen Längsschnitt eine den Ansatz des Verbindungsstücks umgebende Verdickung auf (Abb. 4a), die in der Aufsicht die gesamte Kopfbasis einnimmt, jedoch nach den Seiten hin etwas verstreicht. Gleichzeitig nimmt in einem umschriebenen bandförmigen Bereich unmittelbar vor der Kopfbasis die Elektronendichte der PNS im Schnittbild zu. Darüberhinaus

verringert sich ihre Dicke derart, daß an dieser Stelle eine deutliche Annäherung von Kern- und Zellmembran mit einer stärkeren Haftung resultiert (Piko, 1969; Koehler, 1971). Dieser „basale Gürtel“ bildet die caudale Begrenzung der PNS. Er entspricht der (auf S. 112) beschriebenen bandförmigen Struktur im REM-Bild (Abb. 4d) und ist durch den Ansatzwulst klar gegen den Hals abgegrenzt (Abb. 4b, d).

Zu beiden Seiten des Ansatzbereichs befinden sich an der Kopfbasis zwei Bezirke, in denen sich die Kernmembran vom kondensierten Chromatin des Kerns entfernt und absteigend in die Halsregion erstreckt. Dort liegt sie bei frontalen Längsschnitten entweder in Falten (Nicander und Bane, 1962) oder in spiraligen Windungen vor (Fawcett und Ito, 1965; Fawcett, 1965). Den von Membranen nicht überzogenen Chromatinbereichen entsprechen im Bild des Oberflächenreliefs die Vorwölbungen der beiden hinteren Knöpfe (Abb. 2b, 4b, d), wobei deren Eindruckungen dem Zentrum der membranlosen Stellen zuzuordnen sind. Medial liegt die innere Lamina der Kernmembran dem Chromatin in der Ansatzhöhle auf, während die äußere Lamina noch durch die Basalplatte verstärkt wird (Nicander und Bane, 1962). Die zwischen Basalplatte und hinteren Knöpfen deutlich eingesenkten Furchen (Abb. 4b) deuten darauf hin, daß sich beide Laminae der Kernmembran noch vor dem Ansatz des Verbindungsstücks wieder dem Chromatin anlagern, also nicht erst am Beginn der Basalplatte.

Das System der verschiedenen Membranen um Kern und Akrosom besitzt unterschiedliche Beziehungen zu den von ihnen bedeckten Strukturen. Die Kernmembran überzieht (mit Ausnahme der beiden erwähnten Stellen an der Kopfbasis) überall eng das verdichtete Chromatin (Nicander und Bane, 1966). Das Plasmalemm haftet an der gesamten PNS und ganz besonders fest an ihrem basalen Gürtel (Saacke und Almquist, 1964a). Die Funktion dieses Gürtels hat Koehler (1971) in einem Block für den Stofftransport zwischen Kopf und Hals gesehen. Über dem Akrosom liegt das Plasmalemm nur locker auf.

Nach Barer *et al.* (1953) beträgt der Wassergehalt von Cytoplasma und Akrosom 80–90 %. Die erhebliche Volumenverminderung dieser Anteile des Kopfes beim Trocknungsvorgang hat zur Folge, daß die Membranhülle des Plasmalemm für die geschrumpften Strukturen „zu weit“ wird. Daher entstehen beim Trocknen Falten (Koehler, 1971) oder feine Wülste. Sie finden sich regelmäßig am Rand jener Bezirke, in denen das Plasmalemm besonders innig an den überlagerten Strukturen haftet.

Auf die eben geschilderte Weise lassen sich erklären: das Zustandekommen des apikalen Wulstes (Abb. 2b, d), des feinen Wulstes an der Furche vor der hinteren Zone des Kopfes (Abb. 3b) und die untere Begrenzung des Ansatzwulstes (Abb. 4c, d). — Die Ansatzstelle des Verbindungsstücks kann im räumlichen Bild des REM als deutliche Einsenkung der Kopfbasis gesehen werden (Abb. 5a, b). An beiden Seiten wird sie von den hinteren Knöpfen flankiert. In der Ansatzhöhle unterscheiden Nicander und Bane (1966) nach durchstrahlungs-elektronenmikroskopischen Befunden eine tiefe mediale und zwei flachere seitliche Gruben; diese Verhältnisse bleiben dem Oberflächenbild verborgen.

Daß sich das Verbindungsstück bei der REM-Betrachtung so verschiedenartig darstellt, hat folgenden Grund: Das sehr wasserreiche Cytoplasma des Halses erfährt durch die Trocknung eine starke Volumenverminderung; ähnlich wie an der Kopfbasis legt sich das „zu weite“ Plasmalemm in unterschupfter Weise auf

das Verbindungsstück. — Wegen des nur lockeren Kontaktes von Basalplatte und Verbindungsstück ereignen sich hier die häufigsten Verletzungen am Spermium. Während Bretschneider (1955) noch eine Art Kittsubstanz zwischen beiden Kontaktflächen angenommen hatte, wissen wir heute, daß dieser Kontakt durch zahlreiche feine Filamente gebildet wird (Fawcett und Phillips, 1969). Bei der Ablösung des Schwanzes kann ein Bruch der Fibrillen innerhalb des Verbindungsstücks hinter der Basalplatte stattfinden (Abb. 4d); weit häufiger erfolgt die völlige Abtrennung des Schwanzes vom gelenkigen Kontakt mit der Basalplatte, wobei dann die feinen Filamente abreißen (Fawcett und Phillips, 1969; Abb. 5a).

Jede Loslösung des Schwanzes ist mit einer Kontinuitätstrennung des bedeckenden Plasmalemm verbunden, das in vivo ohne besondere Haftstellen dem Raum zwischen dem basalen Gürtel und dem Beginn des Mittelstücks überbrückt. Die Reste der Zellmembran legen sich dann entweder der Kopfbasis oder den Anteilen des Verbindungsstücks an, das nach einem solchen Defekt meist erst vollständig sichtbar wird (Abb. 4b, e, 5c, d, 6a, c). Im oberen Teil des Verbindungsstücks entspringen die neun peripheren Fibrillen, die sich über das Mittelstück hinaus unterschiedlich weit in das Hauptstück fortsetzen (Fawcett, 1958; Fawcett und Phillips, 1969). Sie sind in ihrem vorderen Teil partiell miteinander verschmolzen, so daß zwei stärkere laterale und fünf schwächere mediale Säulen vorliegen (Nicander und Bane, 1962; Saacke und Almquist, 1964b). Dabei werden besonders die lateralen Säulen durch eine periodische Quersegmentierung gekennzeichnet, die von Fawcett und Phillips (1969) ausführlich beschrieben wurde: Die eine der beiden lateralen Säulen beginnt am korrespondierenden Rand der Kopfbasis im Kapitulum, das etwa in der Form eines auf der Spitze stehenden Dreiecks mit seiner breiten Basis der Basalplatte anliegt. Die andere laterale Säule entspringt auch aus dem Kapitulum (Fawcett, 1965), verläuft direkt an der Kopfbasis entlang und nimmt nach einem Knick ihre Lage auf der anderen Seite des Verbindungsstücks ein. Im REM läßt sich das Kapitulum entweder als rundlich ovales Ende des Verbindungsstücks von der zuletzt genannten zweiten lateralen Säule unterscheiden (Abb. 5e) oder als großes stempelförmiges Gebilde erkennen (Abb. 5f). Diese an abgetrennten Verbindungsstücken nachweisbaren Strukturen bleiben an der unverletzten Kopf-Schwanz-Verbindung ganz oder zumindest teilweise verdeckt, da sie tief in die Ansatzhöhle eingepaßt sind. Falls das Plasmalemm aber faltenlos und dicht auf den überlagerten Strukturen aufliegt, kann auch bei intakter Verbindung die feinere Struktur des Verbindungsstücks von der Oberfläche her wahrgenommen werden.

Unmittelbar an der Kopfbasis weisen die den segmentierten Säulen entsprechenden Längsstränge im REM knopfartige Verdickungen auf (Abb. 4b, e), die auf Höhe der Basalplatte liegen. Dabei erscheint die Verdickung der Stränge an ihrem Ansatz durch das Plasmalemm verstärkt. Das Querschnittsbild durch das Verbindungsstück zeigt im Raum zwischen den beiden stärkeren lateralen Säulen die fünf schwächeren Säulen in zwei Lagen, zu zwei bzw. drei gruppiert (Fawcett, 1965). Dementsprechend kann man im REM unter günstigen Umständen zwei (Abb. 5d) bzw. drei (Abb. 5c) medial gelegene Stränge im Relief wahrnehmen. Sogar die Segmentierung kann sich im REM als feine Bänderung der medialen Stränge ausdrücken (Abb. 5d). Allerdings weisen die Bänder (wie dies auch bei der

Rippung des Kopfrandes der Fall war: vgl. S. 111) ein gröberes Muster als die Segmente im Schnittbild auf.

Die Y-förmige Gabelung einer der beiden lateralen Stranggruppen gegen die Kopfbasis (Abb. 6c) kann nicht der Abknickung der zweiten lateralen Säule entsprechen, da diese bereits an der Kopfbasis erfolgt (vgl. S. 122). — Das proximale Centriol liegt schräg zwischen den beiden lateralen Säulen (Fawcett und Phillips, 1969; Pedersen, 1970) und liefert zu deren Bildung einen wesentlichen Beitrag (Fawcett und Phillips, 1970). Bei dem exzentrischen Schwanzansatz mit dem Kapitulum auf der einen Seite ist das schräg liegende Centriol zu diesem hin orientiert (Nicander und Bane, 1962). Das Centriol befindet sich annähernd in der Ebene der Abflachung des Kopfes: es hat die Gestalt eines Zylinders mit dichter Wand. Da die Beobachtung des abzweigenden Astes im REM nach Lage, Verlauf und Größe mit den Befunden der genannten Autoren übereinstimmt, liegt es nahe, in dieser Struktur das proximale Centriol zu sehen. Eine endgültige Beurteilung kann das REM jedoch nicht liefern.

Die schräg über das Verbindungsstück verlaufenden Züge (Abb. 6a) können nicht unabhängig von der Aufgliederung in stärkere und schwächere Stranggruppen gesehen werden. Da zwei laterale Stranggruppen und zwei bzw. drei mediale Längsstränge vorhanden sind, kommt ein (abnorm) schräger Verlauf nur infolge einer Verwindung des Schwanzes gegenüber der Kopfbasis in Betracht. Daraus kann geschlossen werden, daß ohne Lageveränderung der ansetzenden Stränge an der Basalplatte eine isolierte Verdrillung des Schwanzes um die Längsachse (mit dem Beginn im Verbindungsstück) möglich ist, ohne daß deshalb der gelenkige Kontakt mit den feinen Filamenten zerstört wird.

Aus dem „helikalen“ Muster über den einzelnen medialen Strängen (Abb. 6b) darf unseres Erachtens nicht darauf geschlossen werden, daß sich fibrilläre Strukturen um die Stränge winden. Das von uns beobachtete Muster ist erheblich gröber als es solchen Fibrillen entsprechen müßte. Unsere Befunde stützen weder die Vorstellung des Übergangs eines fibrillären Systems noch die einer bandartigen Verbindung (Randall und Friedlaender, 1950) vom Kopf zum Schwanz. Fawcett (1958) vermutete in diesen beschriebenen Bildungen Artefakte. Wir müssen annehmen, daß das „helikale“ Muster durch die vom Plasmalemm überdeckte Segmentierung der Säulen im Verbindungsstück zustande kommt.

Im Mittelstück befinden sich im Innern der zentrale Fibrillenkomplex sowie neun dickere periphere Fibrillen, die außen von einem Mantel aus helikal angeordneten Mitochondrien umgeben sind (Zusammenfassung über die Modifikationen der Mitochondrien in der Spermiohistogenese bei: André, 1962). Der craniale Beginn dieses Mantels variiert zwischen den Spermien verschiedener Säuger etwas. Ursache hierfür kann sein, daß die Mitochondrien insgesamt nicht ganz regelmäßig angeordnet sind (Bedford, 1967; Pedersen, 1969), daß abnorm dicke Mitochondrien den Anfang bilden (Nicander und Bane, 1962) oder daß die Anfänge der Teilhelices geringfügig gegeneinander versetzt sind (Saacke und Almquist, 1964b). Im REM stellt sich die vordere Begrenzung des Mittelstücks regelmäßig mit einer Abschrägung nach caudal rechts dar (Abb. 4c, e), so daß sie als Beginn einer links-gewundenen Schraube aufgefaßt werden muß, die in deutlichem Abstand von der Kopfbasis ihren Ursprung nimmt. Bei der REM-Betrachtung längerer Mittel-

stückteile unter geringer Vergrößerung fällt die in Grenzen variable Schrägstellung der einzelnen Bänder auf (Abb. 7b); sie hat ihren Ursprung in der helikalen Anordnung der langgestreckten Mitochondrien (Fawcett, 1958). Randall und Friedlaender (1950) sowie Herrnleben (1954) haben bei Schafspemien im Mittelstück eine Tripelhelix beschrieben, wie sie auch bei Rinderspermien (Bahr und Engler, 1970) anzutreffen ist. Nach unseren Beobachtungen können wir das Vorliegen einer Tripelhelix bestätigen.

Bei einer *einfachen Helix* muß das schräge Band so flach nach links ansteigen, daß an der linken Kontur des Mittelstücks die Hälfte der Bandbreite an Höhe gewonnen wird. Nach einer vollständigen Windung ist dann das Band um seine ganze Breite angestiegen und kommt auf sich selbst zu liegen. Bei einer *Tripelhelix* muß die Steigung so erfolgen, daß an der linken Kontur des Mittelstücks der korrespondierende Rand des Bandes um das 1,5fache der Bandbreite höher liegt. Dies ist tatsächlich der Fall, wie unsere Messungen ergeben haben. Die Verminderung des Durchmessers im Verlauf des Mittelstücks wird von einer Verschmälerung der Bänder begleitet und verändert damit das Ergebnis nicht. Auch die Abplattung des Mittelstücks bei der Trocknung stellt das Resultat nicht in Frage, da sie durch eine Verringerung des Steigungswinkels kompensiert wird.

Allerdings kann die tripelhelikale Anordnung durch einen unterschiedlichen Beginn der die Helices aufbauenden Mitochondrien und durch sogenannte überzählige Helices (André, 1962) im Grundmuster etwas abgewandelt werden. Die einzelnen langgestreckten Mitochondrien sind entweder End zu End verbunden (Fawcett, 1958), sie können aber auch an ihrem Kontakt etwas überlappt sein (Bahr und Engler, 1970). Eine im REM erkennbare, schräg über ein Band verlaufende feine Furche (Abb. 7a, Pfeile) deutet eine solche Überlappung von Mitochondrien an.

Folge einer gleich nach dem Beginn des Mantels regelmäßig etwas abnehmenden Mitochondriendicke ist ein konisch sich verjüngender Anfangsabschnitt des Mittelstücks (Abb. 7a). Eine geringfügige Verschmälerung im weiteren Verlauf (Fawcett und Ito, 1965) dürfte auf das Schwinden von Cytoplasma zwischen zentralem Fibrillenkomplex und den peripheren Fibrillen und auf das Dünnerwerden der peripheren Fibrillen zurückzuführen sein. — Den caudalen Abschluß des Mittelstücks bildet der Anulus (Jensen, 1887; Fawcett und Phillips, 1970), an dem das Plasmalemm, ähnlich wie am basalen Gürtel, besonders fest anhaftet (Fawcett und Ito, 1965). Der Anulus weist im Längsschnitt-Bild zwei verschieden elektronendichte Anteile auf (Fawcett, 1958). Im REM erscheint er als 200 nm breites, dickes Band, das im Gegensatz zur Schrägbänderung am Mittelstück absolut quer zur Längsachse steht (Abb. 7c). Der Anulus umgibt die innenliegenden Fibrillen als abschließende Struktur, was zu einer gewissen Verfestigung des Schwanzes an dieser Stelle führt. So überrascht es nicht, daß nach Ultraschallvorbehandlung der Schwanz zuweilen unmittelbar hinter dem Anulus abreißt (vgl. S. 116, Abb. 7d) so daß die Fibrillenstümpfe erkennbar werden.

Nach abruptem Übergang hat das hinter dem Anulus beginnende Hauptstück nur noch einen Durchmesser von 500 nm. Es wird durch eine quere, d. h. senkrecht zur Längsachse verlaufende Rippenzeichnung charakterisiert, deren Breite mit 100 nm halb so breit wie die der Mittelstückbänderung ist. Im vorderen Teil des Hauptstücks bewirken die im Innern gelegenen Fibrillen des Zentralkomplexes mit den eng anliegenden peripheren Fibrillen und den longitudinalen Säulen (Fawcett, 1958) einen starken medialen Längswulst (Abb. 7b). In der queren

Rippung stellen sich die im Halbkreis unter der Oberfläche des Plasmalemm angeordneten Spangen oder Rippen dar, die in Verbindung mit den seitlich im Hauptstück verlaufenden longitudinalen Säulen die Grundlage für eine stabilisierende fibrilläre Scheide bilden (Fawcett und Phillips, 1970; Pedersen, 1970). Auch aus der Darstellung im REM läßt sich kein Argument für die Annahme einer helikalen Anordnung der Elemente in dieser Scheide entnehmen, wie Randall und Friedlaender (1950) und ursprünglich auch Fawcett (1958) angenommen hatten, da, wie ausgeführt, die Rippen quer gelegen sind. Für die von Fawcett (1961) erörterte Möglichkeit der Verzweigung von Spangen ergibt sich im REM kein Anhalt.

Der Verband der Fibrillen wird im weiteren Verlauf des Hauptstücks lockerer, die Fibrillen werden dünner. Im mittleren Teil des Hauptstücks sind auf den Präparaten im plattgedrückten Schwanz die peripheren Fibrillen in zwei dicken Bündeln nach beiden Seiten hin verlagert, so daß nun medial zwischen diesen Bündeln (Seitenwülste, vgl. S. 116) der zentrale Fibrillenkomplex durch das Plasmalemm hindurch erkennbar wird (Abb. 7b). Gegen das Schwanzende zu haben die peripheren Fibrillen schon erheblich an Stärke abgenommen und einige von ihnen in verschiedener Höhe des Hauptstücks schon ihr Ende gefunden (Fawcett, 1961). In diesem Bereich erkennt man nur noch einen medialen Längswulst mit dem zentralen Fibrillenkomplex. Das Ende der fibrillären Scheide bildet zugleich den Abschluß des Hauptstücks. Im REM kommt das durch eine weitere Dickenabnahme des Schwanzes um etwa 100 nm zum Ausdruck (Abb. 7e).

Im Endstück liegen lediglich noch die Fibrillen des Achsenkomplexes vor. Sie verlieren bald ihre Gruppierung zu Doubletten, was den Durchmesser wiederum geringfügig vermindert (Abb. 7e, zwischen den Pfeilen). Jetzt existieren nur noch Einzelfibrillen, von wenig Cytoplasma umgeben, in der Hülle des Plasmalemm (Fawcett, 1958). Schließlich enden die verbliebenen Fibrillen in fast gleicher Höhe (Fawcett, 1965), so daß die Schwanzspitze eine Abrundung erhält.

Auch wenn die Beobachtung im REM nur Reliefstrukturen der Oberfläche zu erkennen gibt, lassen sich doch, wie gezeigt wurde, von der Oberfläche her zahlreiche Rückschlüsse auf Innenstrukturen ziehen. Die maßgeblichen Informationen über den feinstrukturellen Aufbau der Spermien konnten vorwiegend Untersuchungen an Dünnschnitten im Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop liefern. Strukturen, die dort am Schnittprofil dargestellt werden, ganz oder teilweise in ihrem räumlichen Zusammenhang und in der räumlichen Zuordnung zu ihrer Umgebung sichtbar zu machen: das führt zu den ergänzenden Informationen, die das Raster-Elektronenmikroskop bieten kann.

Literatur

- Ånberg, A.: The ultrastructure of human spermatozoon. *Acta obstet. gynec. scand.* **36**, Suppl. 2, 1—133 (1957).
- André, J.: Contribution à la connaissance du chondriome: Études des ses modifications ultrastructurales pendant la spermatogénèse. *J. Ultrastruct. Res.*, Suppl. **3**, 1—185 (1962).
- Bahr, G. F., Engler, N. F.: Considerations of volume, mass, DNA, and arrangement of mitochondria in the midpiece of bull spermatozoa. *Exp. Cell Res.* **60**, 338—340 (1970).
- Barer, R., Ross, K. F., Tkaczyk, S.: Refractometry of living cells. *Nature (Lond.)* **171**, 720—724 (1953).

- Bedford, J. M.: Fine structure of the sperm head in ejaculate and uterine spermatozoa of the rabbit. *J. Reprod. Fertil.* **7**, 221—228 (1964).
- Bedford, J. M.: Observations on the fine structure of spermatozoa of the Bush Baby (*Galago senegalensis*), the African Green Monkey (*Cercopithecus aethiops*), and man. *Amer. J. Anat.* **121**, 443—460 (1967).
- Bishop, M. W. H., Walton, A.: Spermatogenesis and the structure of human spermatozoa. In: Marshall's physiology of reproduction, 3rd ed., vol. 1/part 2, p. 1—129. London: Longmans, Green, and Co. Ltd. 1960.
- Bretschneider, L. M.: An electron microscopical study of bull sperm, III. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.* **52**, 301—309 (1949a).
- Bretschneider, L. M.: An electron microscopical study of sperm (the sperm tail of bull, horse, and dog), IV. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.* **52**, 526—534 (1949b).
- Bretschneider, L. M.: Elektronenmikroskopische Strukturuntersuchungen an Spermien, V. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.* **53**, 531—543 (1950).
- Bretschneider, L. M.: Morphogenese und Pathogenese der Spermien vom Stier, I und II. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.* **58/Ser. C**, 495—522 (1955).
- Clermont, Y., Leblond, C. P.: Spermiogenesis of man, monkey, ram, and other mammals as shown by the "periodic acid SCHIFF" technique. *Amer. J. Anat.* **96**, 229—253 (1955).
- Fawcett, D. W.: The structure of the mammalian spermatozoon. *Int. Rev. Cytol.* **7**, 195—234 (1958).
- Fawcett, D. W.: Cilia and flagella. In: The cell (Brachet, J., Mirsky, A. E., eds.), vol. 2, p. 217—298. New York-London: Academic Press 1961.
- Fawcett, D. W.: The anatomy of the mammalian spermatozoon with particular reference to the guinea pig. *Z. Zellforsch.* **67**, 279—296 (1965).
- Fawcett, D. W., Ito, S.: The fine structure of bat spermatozoa. *Amer. J. Anat.* **116**, 567—609 (1965).
- Fawcett, D. W., Phillips, D. M.: The fine structure and development of the neck region of the mammalian spermatozoon. *Anat. Rec.* **165**, 153—184 (1969).
- Fawcett, D. W., Phillips, D. M.: Recent observations on the ultrastructure and development of the mammalian spermatozoon. In: Comparative spermatology (Bacchetti, B., ed.), *Proc. Int. Symp. Rome and Siena 1969*, p. 13—28. Rome: Accademia Nazionale dei Lincei; New York-London: Academic Press 1970.
- Fujita, T., Miyoshi, M., Tokunaga, J.: Scanning and transmission electron microscopy of human ejaculate spermatozoa with special reference to their abnormal forms. *Z. Zellforsch.* **105**, 483—497 (1970).
- Götze, R.: Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere. Hannover: M. und H. Schaper 1949.
- Gould, K. G., Zanefeld, L. J. D., Williams, W. L.: Mammalian gametes: A study with the scanning electron microscope. In: *Proc. 4th Ann. Symp. Scan. Electr. Micr.* 1971, p. 289—296. Chicago: ITT Research Institute 1971.
- Herrnleben, H. G.: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen an Spermien verschiedener Haussäugetiere. *Wiss. Z. Humboldt-Universität Berlin* **4**, 367—378 (1954/1955).
- Jensen, O. S.: Untersuchungen über die Samenkörper der Säugethiere, Vögel und Amphibien. I. Säugethiere. *Arch. mikr. Anat.* **30**, 379—425 (1887).
- Kessler, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Spermien verschiedener Haussäugetiere mit einigen physiologischen Betrachtungen. *Wiss. Z. Humboldt-Universität Berlin* **4**, 379—394 (1954/1955).
- Koehler, J. K.: Fine structure observations in frozen-etched bovine spermatozoa. *J. Ultrastruct. Res.* **16**, 359—375 (1966).
- Koehler, J. K.: The acrosome-postnuclear cap-junction. A characteristic landmark in rabbit spermatozoa revealed by freeze-etching. *J. Cell Biol.* **43**, 70a (1969).
- Koehler, J. K.: Freeze-etching studies on spermatozoa with particular reference to nuclear and postnuclear cap structure. In: Comparative spermatology (Bacchetti, B., ed.), *Proc. Int. Symp. Rome and Siena 1969*, p. 515—522. Rome: Accademia Nazionale dei Lincei. New York-London: Academic press 1970.

- Koehler, J. K.: A freeze-etching study of rabbit spermatozoa with particular reference to head structures. *J. Ultrastruct. Res.* **33**, 598—614 (1971).
- Lung, B.: Whole mount electron microscopy of chromatin and membranes in bull and human sperm heads. *J. Ultrastruct. Res.* **22**, 485—493 (1968).
- Mann, T.: The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. New York: Wiley 1964.
- Millington, P. F., Critchley, D. R., Tovell, P. W. A., Pearson, R.: Scanning electron microscopy of intestinal microvilli. *J. Mier.* **89**, 339—344 (1969).
- Nicander, L., Bane, A.: Fine structure of boar spermatozoa. *Z. Zellforsch.* **57**, 390—405 (1962).
- Nicander, L., Bane, A.: Fine structure of the sperm head in some mammals, with particular reference to the acrosome and the subacrosomal substance. *Z. Zellforsch.* **72**, 496—515 (1966).
- Nolte, A., Fromme, H. G., Johannaber, F.: Die Darstellung einiger Spermienarten im Raster-Elektronenmikroskop. *Beitr. elektr.mikr. Direktabb. Oberfl.* **3**, 291—298 (1970).
- Ortavant, R., Courot, M., Hochereau, M. T.: Spermatogenesis and morphology of spermatozoa. In: Reproduction in domestic animals (Cole, H. H., Cupps, P. T., eds.), 2nd ed., p. 251—276. New York-London: Academic Press 1969.
- Pedersen, H.: Ultrastructure of the ejaculated human sperm. *Z. Zellforsch.* **94**, 542—554 (1969).
- Pedersen, H.: Ultrastructure of the ejaculated human sperm. In: Comparative spermatology (Bacchetti, B., ed.), *Proc. Int. Symp. Rome and Siena 1969*, p. 133—142. Rome: Accademia Nazionale dei Lincei. New York-London: Academic Press 1970.
- Piko, L.: Gamete structure and sperm entry in mammals. In: Fertilization (Metz, Ch. B., Monroy, A., eds.), vol. 2, p. 325—403. New York-London: Academic Press 1969.
- Rahlmann, D. F.: Electron microscopic study of mature bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* **44**, 915—920 (1961).
- Randall, J. T., Friedlaender, M. H. G.: The microstructure of ram spermatozoa. *Exp. Cell Res.* **1**, 1—32 (1950).
- Saacke, R. G., Almquist, J. O.: I. The head of normal ejaculated sperm. *Amer. J. Anat.* **115**, 143—162 (1964a).
- Saacke, R. G., Almquist, J. O.: II. The neck and tail of normal ejaculated sperm. *Amer. J. Anat.* **115**, 163—183 (1964b).
- Schnall, M.: Electron microscopic studies of human spermatozoa. *Fertil. and Steril.* **3**, 62—82 (1952).
- Sheffner, A. L.: The mucolytic activity, mechanism of action, and metabolism of acetyl-cysteine. *Pharmaco Therapeutica.* **1**, 47—73 (1965).
- Sherman, J. K., Bunge, R. G.: Observations on preservation of human spermatozoa at low temperatures. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **82**, 686—688 (1953).
- Sillo-Seidl, G.: Die Bewegungslehre der menschlichen Samenfasen. *Fortschr. Geburtsh. Gynäk.* **15**, 1—114 (1963).
- Zanefeld, L. J. D., Gould, K. G., Humphreys, W. J., Williams, W. L.: Scanning electron microscopy of mammalian spermatozoa. *J. Reprod. Med.* **6**, 147—151 (1971).
- Zibrin, M.: Some ultrastructural aspects of nuclear morphology in developing spermatids and mature spermatozoa of the bull. *Zbl. Mikr.* **27**, 10—16 (1971).

cand. med. Stephan Schulte-Wrede
Prof. Dr. med. Rudolf Wetzstein
Institut für Histologie und experimentelle
Biologie der Universität München
D-8000 München 2
Pettenkofersstraße 11
Bundesrepublik Deutschland

LEBENS LAUF

Am 10. Januar 1948 wurde ich, STEPHAN MARIA SCHULTE-WREDE, als Sohn des Amtsgerichtsrats KARL SCHULTE-WREDE und seiner Ehefrau SOPHIA, geborene NLINER in Schrobenhausen (Land Bayern) geboren.

1954-1958 Volksschule Schrobenhausen

1958-1967 Oberrealschule Schrobenhausen

1967 Abitur im mathematisch-naturwissenschaftlichen
Zweig

1967 zweimonatiger Krankenpfllegedienst am Kreiskrankenhaus Schrobenhausen

1967-1973 Medizinstudium an der Universität München

1968 Vorphysikum

1970 Physikum

1971 Famulatur (Innere Medizin und Chirurgie)

1973 Staatsexamen

Im Sommer 1970 begann ich am Institut für Histologie und experimentelle Biologie der Universität München bei Prof.Dr. R. Wetzstein mit der Einarbeit in die Technik des Raster-Elektronenmikroskops und führte in der Folgezeit die Untersuchungen durch, die Gegenstand meiner Dissertationsarbeit sind.

Am 8. August 1973 habe ich MARLIES SCHULTE-WREDE, geborene SEDELMEIER, geheiratet.

Vom August 1973 bis Januar 1974 war ich als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Institut für Histologie und experimentelle Biologie der Universität München tätig.

Seit Februar 1974 bin ich an der 1. Medizinischen Klinik der Universität München als Medizinalassistent beschäftigt.

Stephan Schulte-Wrede

